

**SKRINING FUNGI ENDOFIT DARI DAUN TANAMAN CABAI
MERAH (*Capsicum annuum* L.) SEBAGAI PENGHASIL
L-ASPARAGINASE**



APRISILIA MELYANA SADIPUN
2443014221

PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2017

**SKRINING ENDOFIT DARI DAUN TANAMAN CABAI MERAH
(*Capsicum annum* L.) SEBAGAI PENGHASIL L-ASPARAGINASE**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya


OLEH :

APRISILIA MELYANA SADIPUN

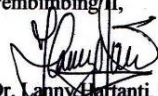
2443014221

Telah disetujui pada tanggal 12 Desember 2017 dan dinyatakan LULUS

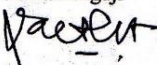
Pembimbing I,


Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

Pembimbing II,


Dr. Lanny Santanti, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0437

Mengetahui,
Ketua Penguji


(Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.)
NIK. 241.98.0351

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Skrining Endofit Dari Daun Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.) Sebagai Penghasil L-Asparaginase** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mnadala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 12 Desember 2017



Aprisilia Melyana Sadipun
2443014221

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 12 Desember 2017



Aprisilia Melyana Sadipun
2443014221

ABSTRAK

SKRINING ENDOFIT DARI DAUN TANAMAN CABAI MERAH (*Capsicum annuum* L.) SEBAGAI PENGHASIL L-ASPARAGINASE

Aprisilia Melyana Sadipun
2443014221

Endofit adalah sumber komponen bioaktif yang dapat dimetabolisme secara alami. Penelitian ini menemukan bahwa kapang endofit dapat menghasilkan antikanker untuk pengobatan Leukimia Limfoblastik Akut (LLA) yaitu dengan memproduksi enzim L-asparaginase sebagai sumber alternatif. Pemilihan kapang sebagai penghasil L-asparaginase karena L-asparaginase yang dihasilkan dari fungi endofit karena termasuk kedalam domain eukariotik sehingga memiliki toksisitas rendah. Pada penelitian ini memakai tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.) sebagai host fungi endofit penghasil enzim L-asparaginase. Produksi L-asparaginase diidentifikasi dengan adanya pembentukan daerah berwarna merah muda disekitar koloni menggunakan *Modified Czapek Dox's* (MCD) agar. Warna yang dihasilkan akibat hidrolisa asparagin menjadi amonia dan aspartat sehingga terjadi perubahan warna media dari kuning (suasana asam) menjadi merah muda (suasana basa), perubahan warna ini dengan adanya penambahan *phenol red* sebagai indikator. Total fungi endofit yang dihasilkan sebanyak 4 fungi dan dilanjutkan dengan uji aktivitas enzim L-asparaginase. Fungi yang dihasilkan dari tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.) dikarakterisasi dan diduga termasuk kedalam 3 genus yaitu *Fusarium*, *Aspergillus*, dan *Chaetosphaeria*. Dari semua isolat, fungi endofit yang diduga termasuk genus *Fusarium* (MEA R3) menunjukkan hasil yang positif pada uji aktivitas enzim L-asparaginase dengan indeks aktivitas sebesar 2,14. Penelitian ini menunjukkan bahwa fungi endofit dapat menjadi sumber alternatif sebagai penghasil enzim L-asparaginase terutama berasal dari tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.)

Kata Kunci: L-asparaginase, *Capsicum annuum* L, endofit, *Fusarium*

ABSTRACT

SCREENING OF ENDOPHYTIC L-ASPARAGINASE-PRODUCING FUNGI FROM *CAPSICUM ANNUUM* L. LEAVES

Aprisilia Melyana Sadipun
2443014221

Endophytes are novel sources of natural bioactive compounds. This study aimed to isolate endophytes that produce L-asparaginase used for Acute Lymphoblastic Leukemia treatment to harness their potential for alternative source of ALL drugs. Fungal L-asparaginase is superior in terms of its eukaryotic origin that may be responsible for lesser toxicity. *Capsicum annuum* L. was selected in this study as host plant of endophyte L-asparaginase-producing. L-asparaginase producing endophytes were detected by the formation of pink zones on Modified Czapek Dox's (MCD) medium, the result of hydrolizes of asparagin into aspartic acid and ammonia that converts phenol red dye indicator from yellow (acidic condition) to pink (alkaline condition). A total of four fungal isolates were screened for L-asparaginase activity. *Capsicum annuum* L. producing fungi were indentified as probable genus *Fusarium*, *Aspergillus* and *Chaetosphaeria*. Among these, *Fusarium* (MEA R3) showed the zone index up to 2.14. This study revealed that endophytes are good alternative sources for L-asparaginase production and they can be sourced from anticancer plants, particulary *C.annuum* L.

Keywords: L-asparaginase, *Capsicum annuum* L, endophytes, *Fusarium*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat rahmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “**Skrining Endofit Dari Daun Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.) Sebagai Penghasil L-Asparaginase**” ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh sebab itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya pada semua pihak yang membantu dalam pembuatan skripsi ini:

1. Bunda Maria dan Yesus Kristus, atas berkat dan rahmat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah ini
2. Papa, mama, koko Klemens L. Sadipun, Stanislaus J. Sadipun, dan cece Mariana F.Y. Sadipun, S.S., Yunita E. Sadipun, S.E., Liliyanti S. Sadipun, S.H., serta adik saya Lanny, Adrian, dan Xiella yang telah memberikan dukungan moril dan non-moril, menyemangati penulis sehingga bisa menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan baik.
3. Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. dan Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing atas saran, nasehat, semangat, kesabaran dan waktu yang telah banyak diluangkan untuk mendampingi penulis selama penelitian dan prose penyusunan naskah skripsi ini.

4. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt. dan Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc., Biol selaku ketua penguji dan penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Sumi Wijaya, Ph.D., Apt. selaku penasihat akademik yang mendampingi penulis.
6. Ignasius Rinanto Cipto (Laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi) dan mas Dwi (Laboran Lab. Penelitian Farmasi) yang membantu penulis pada saat melakukan penelitian.
7. Teman-teman L-asparaginase yang selalu membantu penulis dalam menyelesaikan naskah dan memberikan saran: Evi Nurwinda, Robert Daniswara dan Winda Winarto.
8. Teman-teman terdekat saya dari semester 1, Sonnia Tiffany dan Yeni Agustina yang telah menyemangati penulis dalam menyelesaikan skripsi.
9. Sahabat-sahabat 1a: Vina, Agnes, kak Anna, kak As dan mbak Een yang selalu menyemangati penulis untuk menyelesaikan pendidikan Farmasi S1 secepatnya.
10. Sahabat-sahabat SMATER saya, Alia Arsanti, Alva Idi, Anggun, dan Ronald yang selalu menghibur dan memberi semangat pada penulis.
11. Semua pihak terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 20 November 2017

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan tentang Mikroba Endofit.....	7
2.1.1 Fungsi Metabolit Sekunder Mikroba Endofit.....	8
2.1.2 Kapang Endofit.....	9
2.2 Tinjauan tentang Isolasi Mikroba Endofit.....	13
2.3 Tinjauan tentang Cabai Merah.....	14

2.3.1	Klasifikasi Tanaman Cabai Merah.....	15
2.3.2	Makroskopis Daun Tanaman Cabai Merah.....	16
	Halaman	
2.3.3	Mikroskopis Daun Tanaman Cabai Merah.....	16
2.4	Tinjauan tentang Leukemia Limfoblastik Akut.....	18
2.4.1	Tahap Kemoterapi.....	18
2.5	Tinjauan tentang Enzim L-asparaginase.....	20
2.5.1	Klasifikasi Enzim L-asparaginase.....	22
2.5.2	Enzim L-asparaginase Hasil Produksi Fungi Endofit.....	23
2.6	Tinjauan tentang Karakterisasi Fungi.....	23
2.7	Tinjauan tentang Uji Biokimia.....	24
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN.....	26
3.1	Jenis Penelitian.....	26
3.2	Bahan dan Alat Penelitian.....	26
3.2.1	Bahan Penelitian.....	26
3.2.2	Alat Penelitian.....	26
3.3	Metode Penelitian.....	27
3.3.1	Uji Aktivitas Enzim L-asparaginase Secara Semikuantitatif.....	27
3.4	Variabel Penelitian.....	28
3.5	Tahapan Penelitian.....	28
3.5.1	Pengambilan Sampel Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.....	28
3.5.2	Pembuatan Medium Pertumbuhan	

Fungi Endofit.....	29
3.5.3 Determinasi, Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Daun Tanaman	
	Halaman
Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	29
3.5.4 Isolasi Fungi Endofit dari Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	30
3.5.5 Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	30
3.5.6 Uji Aktivitas L-Asparaginase Secara Semikuantitatif.....	31
3.5.7 Karakterisasi Fungi Endofit.....	31
3.6 Analisis Data.....	33
3.7 Skema Kerja.....	34
BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Hasil Penelitian.....	35
4.1.1 Determinasi Daun Tanaman Cabai Merah(<i>Capsicum annuum</i> L.).....	35
4.1.2 Makroskopis dan Mikroskopis Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	35
4.1.3 Isolasi Fungi Endofit dari Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	38
4.1.4 Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	39
4.1.5 Penyiapan Skrining Aktivitas Enzim L-asparaginase.....	39
4.1.6 Pengujian Aktivitas Enzim L-asparaginase Fungi Endofit Tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	40

4.1.7 Karakterisasi Fungi Endofit.....	41
4.2 Pembahasan.....	48
	Halaman
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Hifa kapang endofit dalam jaringan tanaman.....	8
2.2 Daun tanaman Cabai Merah.....	16
2.3 Stomata pada bagian epidermis.....	17
2.4 Penampang melintang daun Cabai Merah.....	17
2.5 Ilustrasi skema reaksi L-asparaginase.....	20
2.6 Reaksi pembentukan akrilamida.....	22
3.1 Skema kerja penelitian.....	34
4.1 Determinasi tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	35
4.2 Pengamatan makroskopis daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	36
4.3 Pengamatan mikroskopis melintang daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) dengan perbesaran 10 x10.....	37
4.4 Berkas pembuluh pada penampang melintang daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	37
4.5 Stomata tipe anisositik pada penampang membujur permukaan bawah daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) dengan perbesaran 10x40.....	38
4.6 Pengamatan hasil isolasi fungi endofit setelah diinkubasi selama 3 hari.....	38
4.7 Koloni murni fungi endofit daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) usia 5 hari pada media <i>Malt Extract Agar</i> (MEA) dan <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Jenis fungi endofit dan inangnya.....	12
2.2 Sintesis eksoenzim fungi endofi.....	13
4.1 Pengamatan makroskopis daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.)....	36
4.2 Hasil pengamatan uji aktivitas enzim L-asparaginase fungi endofit daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) setelah diinkubasi.....	40
4.3 Hasil pengamatan uji aktivitas enzim L-asparaginase fungi endofit daun Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.)	41
4.4 Hasil pengamatan pertumbuhan koloni fungi endofit daun Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) pada media MCD.....	41
4.5 Tabel pengamatan makroskopis isolat fungi endofit daun tanaman Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	42
4.6 Hasil pengamatan mikroskopis isolat yang tumbuh pada media <i>Potato Dextrose Agar</i> dengan perbesaran 10x40.....	43
4.7 Hasil pengamatan mikroskopis isolat yang tumbuh pada media <i>Malt Extract Agar</i> dengan perbesaran 10x40.....	44
4.8 Pengamatan hidrolisa amilum fungi endofit daun Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) pada media <i>Starch Agar</i>	45
4.9 Pengamatan hidrolisa kasein fungi endofit daun Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) pada media <i>Skim Milk Agar</i>	46
4.10 Pengamatan hidrolisa lemak fungi endofit daun Cabai Merah (<i>Capsicum annuum</i> L.) pada media <i>Neutral Red Agar</i>	47
4.11 Rekapitulasi hasil pengamatan uji hidrolisa pada	

fungi endofit.....	48
--------------------	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. KONTROL STERILISASI PERMUKAAN DAUN TANAMAN CABAI MERAH (<i>CAPSICUM ANNUUM</i> L.).....	59
B. PERHITUNGAN INDEKS AKTIVITAS ENZIM L-ASPARAGINASE.....	60